

**Т.П. Пирог^{1,2}, А. Д. Конон¹, А.П. Софилканич¹,
Т.А. Шевчук², Г.А. Иутинская²**

¹Национальный университет пищевых технологий,
ул. Владимирская, 68, Киев, 01601, Украина

²Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины,
ул. Академика Заболотного, 154, Киев ДСП, Д03680, Украина

ДЕСТРУКЦИЯ НЕФТИ В ПРИСУТСТВИИ Cu^{2+} И ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ *ACINETOBACTER* *CALCOACETICUS* IMB B-7241, *RHODOCOCOCCUS ERYTHROPOLIS* IMB Ac-5017 И *NOCARDIA VACCINII* IMB B-7405

Исследовали влияние катионов меди (0,01–1,0 мМ) и поверхностно-активных веществ (ПАВ) *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017 и *Nocardia vaccinii* IMB B-7405 в виде культуральной жидкости на разложение нефти в воде (3,0–6,0 г/л) и почве (20 г/кг), в том числе при наличии Cd^{2+} и Pb^{2+} (0,01–0,5 мМ).

Показано, что в присутствии невысоких концентраций Cu^{2+} (0,01–0,05 мМ) и культуральной жидкости штаммов IMB B-7241, IMB Ac-5017 и IMB B-7405 степень деструкции нефти в воде и почве через 20 сут была на 15–25 % выше, чем без катионов меди. Установлено активирующее влияние Cu^{2+} на разложение комплексных с Cd^{2+} и Pb^{2+} нефтяных загрязнений: после обработки ПАВ *A. calcoaceticus* IMB B-7241 и *R. erythropolis* IMB Ac-5017 деструкция нефти в воде и почве составляла 85–95 %, а после удаления катионов меди снижалась до 45–70 %.

Интенсификация разложения нефти в присутствии катионов меди может быть обусловлена их стимулирующим влиянием на активность алкангидроксилаз как штаммов-продуцентов ПАВ, так и природной (автохтонной) нефтеокисляющей микробиоты.

К л ю ч е в ы е с л о в а: *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017, *Nocardia vaccinii* IMB B-7405, поверхностно-активные вещества, деструкция нефти, катионы меди, тяжёлые металлы.

В предыдущих исследованиях [1–3] была показана возможность использования препаратов поверхностно-активных веществ (ПАВ), синтезированных *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017 и *Nocardia vaccinii* IMB B-7405 для очистки воды от нефти. Через 30 сут степень деструкции нефти (2,6–3,0 г/л) в присутствии 5–10 % (по объёму) препаратов ПАВ в виде постферментационной культуральной жидкости или супернатанта составляла 81–95 %. В работах [1–3] было установлено, что одним из механизмов интенсификации разложения нефти является активация природной (автохтонной) нефтеокисляющей микробиоты воды под влиянием микробных ПАВ.

Дальнейшие исследования [4, 5] показали, что добавление Cu^{2+} (0,01–0,5 мМ) в экспоненциальной фазе роста штаммов IMB B-7241, IMB Ac-5017 и IMB B-7405 на гидрофобных и гидрофильных субстратах (гексадекан, жидкие парафины, подсолнечное масло, этанол, глицерин) сопровождалось повышением условной концентрации ПАВ на 25–140 % по сравнению с показателями на среде без катионов меди. Максимальная интенсификация синтеза ПАВ *A. calcoaceticus* IMB B-7241 и *R. erythropolis* IMB Ac-5017 наблюдалась при внесении Cu^{2+} в среду с углеводородами, а повышение синтеза ПАВ в присутствии катионов меди обусловлено их активирующим влиянием на активность алкангидроксилазы АлкБ типа обоих штаммов [4]. Мембрансвязанная монооксигеназа (АлкБ-алкангидроксилаза) является одним из ферментов трехкомпонентного алкангидроксилазного комплекса, содержащего также растворимую НАДН-рубредоксинредуктазу и растворимый рубредоксин [15, 17]. Этот комплекс осуществляет окисление углеводородов у многих бактерий, в частности, представителей родов *Rhodococcus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*.

В работе [4] мы акцентировали внимание на литературных данных [11, 13], свидетельствующих о ключевой роли Cu^{2+} в физиологии и активности метанотрофов. Окисление метана у метанотрофов осуществляется мембрансвязанной и/или растворимой метаноксигеназой, принадлежащей к классу алкангидроксилаз, как и ферменты катаболизма *n*-алканов. У метанотрофов, имеющих обе метаноксигеназы, Cu^{2+} является ключевым фактором как в

регуляции экспрессии генов, ответственных за их синтез, так и регуляции активности этих ферментов. Для многих метанотрофов установлена зависимость показателей роста (скорость роста, концентрация биомассы, экономический коэффициент) от содержания катионов меди в среде культивирования [11].

В связи с изложенным выше мы предположили, что катионы меди могут являться активаторами алкангидроксилазы и природной нефтеокисляющей микрофлоры и, следовательно, наличие Cu^{2+} может стимулировать разложение нефти в воде и почве.

Цель данной работы – исследовать влияние катионов меди и поверхностно-активных веществ *A. calcoaceticus* IMB B-7241, *R. erythropolis* IMB Ac-5017 и *N. vaccinii* IMB B-7405 на деструкцию нефтяных загрязнений, в том числе и комплексных с тяжелыми металлами.

Материалы и методы. Объектами исследований являлись штаммы *Rhodococcus erythropolis* ЭК-1, *Acinetobacter calcoaceticus* К-4 и *Nocardia vaccinii* К-8, зарегистрированные в Депозитарии микроорганизмов Института микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного Национальной академии наук Украины под номерами IMB Ac-5017, IMB B-7241 и IMB B-7405 соответственно.

R. erythropolis IMB Ac-5017 выращивали в жидкой минеральной среде следующего состава (г/л): NaNO_3 – 1,3, NaCl – 1,0, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ – 0,6, KH_2PO_4 – 0,14, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,1, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,001, pH 6,8–7,0.

A. calcoaceticus IMB B-7241 культивировали в среде такого же состава за исключением источника азота: вместо NaNO_3 в среду вносили $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ в концентрации 0,35 г/л.

Штамм *N. vaccinii* К-8 выращивали в жидкой минеральной среде (г/л): NaNO_3 – 0,5, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,1, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,1, KH_2PO_4 – 0,1, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,1, дрожжевой автолизат – 0,5 (по объему).

В качестве источника углерода и энергии использовали этанол, *n*-гексадекан, глицерин, а также подсолнечное масло в концентрации 2 % (по объему).

В качестве инокулята использовали культуры из экспоненциальной фазы роста, выращенные в соответствующих жидких средах, содержащих 0,5–1 % субстрата. Количество посевного материала (10^4 – 10^5 кл/мл) составляло 5–10 % от объема питательной среды. Культивирование бактерий осуществляли в колбах объемом 750 мл со 100 мл среды на качалке (320 об/мин) при 28–30 °С в течение 120 ч.

Для моделирования загрязненной нефтью и катионами металлов почвы в пластиковую емкость вносили 1 кг почвы, 25 мл нефти, культуральную жидкость, содержащую ПАВ (200 мл), 0,01 % диаммонийфосфата в качестве источника биогенных элементов и перемешивали. При комплексном загрязнении нефтью и катионами металлов в почву вносили (отдельно и в комбинациях) 0,01–0,05 мМ Cu^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} в виде 1М растворов солей $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ и $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COOH})_4$ соответственно. Образцы каждые три дня перемешивали для улучшения аэрации и увлажняли стерильной водой. Продолжительность эксперимента 20–30 сут.

При моделировании загрязненных нефтью и металлами водоемов в пластиковую емкость вносили 2 л бьюетной воды, на поверхность которой наносили 6–15 мл нефти, после чего добавляли культуральную жидкость, содержащую ПАВ (5 % по объему), а также 0,01–1,0 мМ Cu^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} отдельно и в различных комбинациях. В качестве источника биогенных элементов использовали диаммонийфосфат (0,01 %). Общее количество живых клеток гетеротрофов в бьюетной воде в течение эксперимента (20–30 сут) определяли по методу Коха на МПА.

Количество нефти определяли весовым методом. Для этого осуществляли трехкратную экстракцию нефти гексаном (соотношение 1:1). Органический экстракт упаривали до постоянной массы на роторном испарителе ИР–1М2 (Россия) при температуре 55°С и абсолютном давлении 0,4 атм.

В работе использовали нефть из месторождения Долина Ивано-Франковской обл. (Украина) плотностью 0,85 г/см³.

Все опыты проводили в 3 повторностях, количество параллельных определений в экспериментах составляло от 3 до 5. Статистическую обработку экспериментальных данных проводили, как описано ранее [4, 5]. Различия средних показателей считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты. В табл. 1 представлены данные по разложению нефти в воде, содержащей различные концентрации катионов меди и ПАВ *A. calcoaceticus* IMB B-7241, *R. erythropolis* IMB Ac-5017 и *N. vaccinii* IMB B-7405 в виде культуральной жидкости. Выбор такой формы препаратов ПАВ был обусловлен тем, что предыдущие исследования показали высокую эффективность для очистки воды и почвы от нефти невысоких (5–10 %) концентраций культуральной жидкости штаммов IMB B-7241, IMB Ac-5017 и IMB B-7405 [1–3].

Эксперименты показали, что через 20 сут после обработки культуральной жидкостью *A. calcoaceticus* IMB B-7241, *R. erythropolis* IMB Ac-5017 и *N. vaccinii* IMB B-7405 степень деструкции нефти в воде, содержащей 0,01–0,05 мМ Cu^{2+} , была на 15–23 % выше, чем в соответствующих вариантах без катионов меди (табл. 1). Отметим, что при повышении концентрации Cu^{2+} в воде до 0,5–1,0 мМ эффективность разложения нефти несколько снижалась по сравнению с таковой в присутствии более низких концентраций катионов меди, однако оставалась выше, чем без Cu^{2+} .

Таблица 1

Деструкция нефти в воде в присутствии катионов меди и культуральной жидкости *A. calcoaceticus* IMB B-7241, *R. erythropolis* IMB Ac-5017 и *N. vaccinii* IMB B-7405

Продуцент ПАВ	Деструкция нефти (%) при наличии Cu^{2+} (мМ)					
	0	0,01	0,05	0,1	0,5	1,0
IMB B-7241	76	98	98	95	91	88
IMB Ac-5017	77	98	92	90	89	85
IMB B-7405	75	90	90	87	85	80

Примечание. Продолжительность эксперимента 20 сут. Начальная концентрация нефти в воде 3,0 г/л. Степень деструкции нефти в необработанном ПАВ и катионами меди варианте 2,5 %. Табл. 1 и 2: культивирование штамма IMB B-7241 и IMB Ac-5017 осуществляли на среде с *n*-гексадеканом, а IMB B-7405 – глицерином. Табл. 1 и 3: при определении степени деструкции нефти погрешность не превышала 5 %.

Данные по анализу микробиоты загрязненной нефтью воды, содержащей катионы меди и культуральную жидкость *A. calcoaceticus* IMB B-7241, *R. erythropolis* IMB Ac-5017 и *N. vaccinii* IMB B-7405 представлены в табл. 2.

Установлено, что в воде (до загрязнения нефтью и обработки препаратами ПАВ) содержалось $3,5 \cdot 10^3$ КОЕ/мл (табл. 2). Микробиота такой воды была представлена четырьмя морфотипами колоний. Анализ микробиоты воды в течение эксперимента показал увеличение численности клеток во всех вариантах, однако, в присутствии катионов меди и культуральной жидкости *A. calcoaceticus* IMB B-7241, *R. erythropolis* IMB Ac-5017 и *N. vaccinii* IMB B-7405 количество клеток было выше, чем без Cu^{2+} (табл. 2).

Таблица 2

Изменение численности природной микробиоты воды в процессе биоремедиации

Продуцент ПАВ	Концентрация Cu^{2+} , мМ	Количество клеток (КОЕ/мл) через (сут)		
		7	14	20
IMB B-7241	0	$(2,0 \pm 0,10) \cdot 10^5$	$(2,8 \pm 0,14) \cdot 10^5$	$(3,0 \pm 0,15) \cdot 10^5$
	0,01	$(3,0 \pm 0,15) \cdot 10^5$	$(3,5 \pm 0,17) \cdot 10^5$	$(4,2 \pm 0,21) \cdot 10^5$
	0,05	$(3,0 \pm 0,15) \cdot 10^5$	$(3,6 \pm 0,18) \cdot 10^5$	$(4,1 \pm 0,20) \cdot 10^5$
IMB Ac-5017	0	$(1,6 \pm 0,08) \cdot 10^5$	$(2,6 \pm 0,13) \cdot 10^5$	$(2,8 \pm 0,14) \cdot 10^5$
	0,01	$(2,0 \pm 0,10) \cdot 10^5$	$(3,1 \pm 0,15) \cdot 10^5$	$(3,9 \pm 0,19) \cdot 10^5$
	0,05	$(1,9 \pm 0,09) \cdot 10^5$	$(3,0 \pm 0,15) \cdot 10^5$	$(3,7 \pm 0,18) \cdot 10^5$
IMB B-7405	0	$(1,9 \pm 0,09) \cdot 10^5$	$(2,1 \pm 0,11) \cdot 10^5$	$(2,4 \pm 0,12) \cdot 10^5$
	0,01	$(2,8 \pm 0,14) \cdot 10^5$	$(3,5 \pm 0,17) \cdot 10^5$	$(3,9 \pm 0,19) \cdot 10^5$
	0,05	$(2,8 \pm 0,14) \cdot 10^5$	$(3,3 \pm 0,16) \cdot 10^5$	$(3,7 \pm 0,18) \cdot 10^5$

Примечание. Начальное количество клеток в воде (до внесения нефти, катионов меди и ПАВ) составляло $(3,5 \pm 0,2) \cdot 10^3$ КОЕ/мл. Степень деструкции нефти в необработанной ПАВ и катионами меди воде 2,5 %, а количество клеток на 20 сут – $(2,3 \pm 0,26) \cdot 10^4$.

Такие результаты подтверждают полученные нами ранее данные о том, что основным механизмом, обеспечивающим активную деструкцию нефти в воде в присутствии ПАВ

A. calcoaceticus IMB B-7241, *R. erythropolis* IMB Ac-5017 и *N. vaccinii* IMB B-7405, является активация ими природной нефтеокисляющей микробиоты воды [1–3]. Кроме того, данные, представленные в табл. 2, свидетельствуют о том, что и катионы меди стимулируют развитие автохтонной микробиоты загрязненной нефтью воды.

Наши результаты согласуются с литературными данными о метагеномном анализе загрязненных нефтью почв и водоемов, который показал, что после загрязнения нефтью в этих экосистемах наблюдается индукция AlkB генов, ответственных за синтез алкангидроксилаз [6, 7, 10]. Данные литературы [11, 17] и наши собственные результаты [4] свидетельствуют о том, что активаторами алкангидроксилаз являются катионы меди.

Однако в работе [10] отмечается, что не всегда в загрязненных углеводородами системах имеет место индукция AlkB генов. Такое явление можно объяснить тем, что алканы окисляются как алкангидроксилазными системами, содержащими негемовое железо, так и цитохром P450-монооксигеназами [15]. Среди цитохром P450-монооксигеназных систем различают эукариотические CYP52-ферменты, функционирующие у дрожжей (например, *Candida maltosa*, *Candida tropicalis*), а также бактериальные CYP153-ферменты, обнаруженные у представителей родов *Acinetobacter*, *Mycobacterium*, *Caulobacter*, *Sphingomonas* [15]. В работе [16] авторы сообщают, что в поверхностных водах Атлантического океана выявлены как AlkB, так и CYP153-гены.

Таким образом, положительное влияние невысоких (0,01–0,05 мМ) концентраций Cu^{2+} на процесс деструкции нефти в воде (см. табл. 1) может быть обусловлено активацией алкангидроксилаз как штаммов-продуцентов ПАВ, так и природной нефтеокисляющей микробиоты.

Дальнейшие эксперименты показали, что катионы меди интенсифицируют разложение нефти и в почве, обработанной культуральной жидкостью (рис. 1). В вариантах, содержащих 0,01 мМ Cu^{2+} , степень разложения нефти была на 20–25 % выше, чем без катионов меди.

Поскольку загрязнения в экосистемах чаще всего являются комплексными (например, одновременное наличие как нефти, так и катионов нескольких тяжелых металлов) [8, 9, 12, 14], на следующем этапе исследовали влияние культуральной жидкости *A. calcoaceticus* IMB B-7241 и *R. erythropolis* IMB Ac-5017 на деструкцию комплексных с тяжелыми металлами нефтяных загрязнений в воде и почве (табл. 3 и рис. 2).

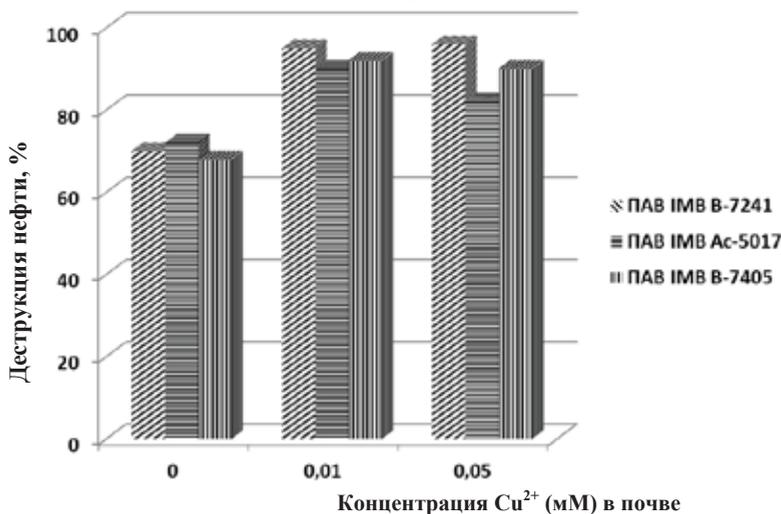


Рис. 1. Влияние Cu^{2+} и культуральной жидкости *A. calcoaceticus* IMB B-7241, *R. erythropolis* IMB Ac-5017 и *N. vaccinii* IMB B-7405 на деструкцию нефти в почве.

Продолжительность эксперимента 20 сут. Степень деструкции нефти в необработанной ПАВ и катионами меди почве 3,5 %. Штаммы IMB B-7241, IMB Ac-5017 и IMB B-7405 выращены на этаноле, подсолнечном масле и глицерине соответственно. Рис. 1 и 2: начальная концентрация нефти 20 г/кг почвы; при определении деструкции нефти погрешность не превышала 5 %.

Установлено, что степень разложения нефти практически во всех вариантах комплексных загрязнений была достаточно высокой (85–95 %) и практически не зависела от начальной концентрации нефти в воде (табл. 3).

Наиболее низкая эффективность деструкции нефти (58–70 %) наблюдалась в присутствии смеси катионов кадмия и свинца. Отметим, что при наличии катионов меди в смеси металлов степень разложения нефти в воде повышалась. Анализ микробиоты воды в течение эксперимента показал, что в присутствии катионов меди и ПАВ количество клеток было в 1,3–1,5 раза выше, чем без Cu^{2+} .

Таблица 3

Влияние культуральной жидкости *A. calcoaceticus* IMB B-7241 на деструкцию нефти в воде в присутствии Cu^{2+} , Cd^{2+} и Pb^{2+}

Концентрация катионов в воде, мМ			Степень деструкции нефти на 30 сут (%) при начальной концентрации (г/л)	
Cu^{2+}	Pb^{2+}	Cd^{2+}	3,0	6,0
0	0	0	92	90
0,5	0,1	0	95	92
0,5	0,5	0	95	92
0,5	0	0,1	94	89
0,5	0	0,5	94	88
0	0,1	0,1	70	68
0	0,1	0,5	68	65
0	0,5	0,1	64	60
0	0,5	0,5	60	58
0,5	0,1	0,1	92	88
0,5	0,1	0,5	92	87
0,5	0,5	0,1	90	85
0,5	0,5	0,5	90	85

Примечание. Культивирование штамма IMB B-7241 осуществляли на среде с этанолом.

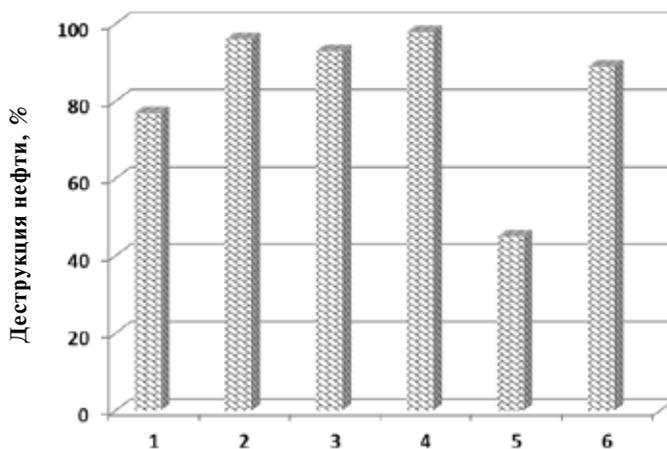


Рис. 2. Деструкция нефти в почве, содержащей несколько катионов токсичных металлов, в присутствии культуральной жидкости *R. erythropolis* IMB Ac-5017.

1 – без катионов металлов (контроль), 2 – Cu^{2+} , 3 – $\text{Cu}^{2+} + \text{Cd}^{2+}$, 4 – $\text{Cu}^{2+} + \text{Pb}^{2+}$, 5 – $\text{Cd}^{2+} + \text{Pb}^{2+}$, 6 – $\text{Cu}^{2+} + \text{Cd}^{2+} + \text{Pb}^{2+}$.

Продолжительность эксперимента 25 сут. Концентрация Cu^{2+} 0,05 мМ, остальных катионов – 0,01 мМ. Степень деструкции нефти в необработанной ПАВ и катионами металлов почве 4,5 %. Штамм бактерий выращивали на н-гексадекане.

Аналогичные результаты получены при изучении влияния катионов меди и культуральной жидкости штамма Ac-5017 на разложение комплексных с тяжелыми металлами нефтяных загрязнений в почве (рис. 2). Деструкция нефти в вариантах, содержащих 0,05 мМ Cu^{2+} , была выше, чем без катионов меди, а в присутствии смеси Cd^{2+} и Pb^{2+} составляла всего 42–45 %.

Таким образом, в результате проведенной работы установлено стимулирующее влияние невысоких концентраций катионов меди на разложение нефти в воде и почве в присутствии поверхностно-активных веществ *A. calcoaceticus* IMB B-7241, *R. erythropolis* IMB Ac-5017 и *N. vaccinii* IMB B-7405.

Т.П. Пирог^{1,2}, А.Д. Конон¹, А.П. Софілканич¹, Т.А. Шевчук², Г.О. Іутинська²

¹ Національний університет харчових технологій,
вул. Володимирська, 68, Київ, 01601, Україна

² Інститут мікробіології і вірусології НАН України,
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ ДСП, Д03680, Україна

**ДЕСТРУКЦІЯ НАФТИ ЗА ПРИСУТНОСТІ Cu^{2+}
І ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН *ACINETOBACTER*
CALCOACETICUS IMB B-7241, *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS*
IMB Ac-5017 І *NOCARDIA VACCINII* IMB B-7405**

Резюме

Досліджували вплив катіонів міді (0,01–1,0 мМ) та поверхнево-активних речовин (ПАР) *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017 і *Nocardia vaccinii* IMB B-7405 у вигляді культуральної рідини на розкладання нафти у воді (3,0–6,0 г/л) та ґрунті (20 г/кг), у тому числі за наявності Cd^{2+} і Pb^{2+} (0,01–0,5 мМ).

Показано, що за присутності невисоких концентрацій Cu^{2+} (0,01–0,05 мМ) і культуральної рідини штамів IMB B-7241, IMB Ac-5017 та IMB B-7405 ступінь деструкції нафти у воді та ґрунті через 20 діб був на 15–25 % вищим, ніж без катіонів міді. Встановлено активуючий вплив Cu^{2+} на розкладання комплексних з Cd^{2+} і Pb^{2+} нафтових забруднень: після обробки ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 і *R. erythropolis* IMB Ac-5017 деструкція нафти у воді та ґрунті становила 85–95 %, а після видалення катіонів міді знижувалася до 45–70 %.

Інтенсифікація розкладання нафти за присутності катіонів міді може бути зумовлена їх стимулювальним впливом на активність алкангідроксилаз як штамів-продуцентів ПАР, так і природної (автохтонної) нафтоокиснювальної мікробіоти.

Ключові слова: *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017, *Nocardia vaccinii* IMB B-7405, поверхнево-активні речовини, деструкція нафти, катіони міді, важкі метали.

T.P.Pirog, A.D. Konon, A.P. Sofilkanich, T.A. Shevchuk, G.O. Iutinska

**DESTRUCTION OF OIL IN THE PRESENCE OF Cu^{2+}
AND SURFACTANTS OF *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* IMV B-7241,
RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS IMV Ac-5017 AND *NOCARDIA VACCINII*
IMV B-7405**

Summary

The effect of copper cations (0.01-1.0 mM) and surface-active agents (surfactants) of *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMV Alc-5017 and *Nocardia vaccinii* IMV B-7405 in the form of culture liquid on the destruction of oil in water (3.0-6.0 g/L) and soil (20g/kg), including in the presence of Cd^{2+} and Pb^{2+} (0.01-0.5 mM), was investigated.

It was shown that the degree of oil degradation in water and soil after 20 days in the presence of low concentrations of Cu^{2+} (0.01-0.05 mM) and culture liquid of strains IMV B-7241, IMV Ac-5017, and IMV B-7405 was 15 - 25% higher than without copper cations. The activating effect of Cu^{2+} on the decomposition of complex oil and Cd^{2+} and Pb^{2+} pollution was established: after treatment with surfactant of *A. calcoaceticus* IMV B-7241 and *R. erythropolis* IMV Ac-5017 destruction of oil in water and soil was 85-95 %, and after removal of the copper cations decreased to 45-70%.

Intensification of oil destruction in the presence of copper cations may be due to their stimulating effect on the activity of alkane hydroxylases as in surfactant-producing strains, and natural (autochthonous) oxidizing microbiota.

Key words: *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017, *Nocardia vaccinii* IMV B-7405, surfactant, oil degradation, copper cations, heavy metals.

1. Пирог Т.П., Антонюк С.І., Сорокіна А.І. Вплив поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* К-4 на ефективність мікробної деструкції нафтових забруднень // Мікробіол. журнал. – 2009. – 71, № 5. – С. 8–13.
2. Пирог Т.П., Шулякова М.О., Шевчук Т.А., Софілканич А.П. Біотехнологічний потенціал бактерій роду *Rhodococcus* та їх метаболітів // Біотехнологія. – 2012. – 5, № 2. – С. 51–68.
3. Пирог Т.П., Хом'як Д.І., Гриценко Н.А., Софілканич А.П., Конон А.Д., Погора Х.А. Бактерії роду *Nocardia* як об'єкти біотехнології // Biotechnologia Acta. – 2013. – 6, № 3. – Р. 23–35.
4. Пирог Т.П., Конон А.Д., Софілканич А.П., Шевчук Т.А., Парфенюк С.А. Влияние Cu^{2+} на синтез поверхностно-активных веществ *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B 7241 и *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017 // Микробиол. журнал. – 2013. – 75, № 1. – С. 3–13.
5. Пирог Т.П., Конон А.Д., Погора К. А., Шевчук Т.А., Иутинская Г.А. Влияние тяжелых металлов на синтез поверхностно-активных веществ *Nocardia vaccinii* IMB B-7405 // Микробиол. журнал. – 2014. – 76, №4. – С. 9–16.
6. Guibert L.M., Loviso C.L., Marcos M.S., Commendatore M.G., Dionisi H.M., Lozada M. Alkane biodegradation genes from chronically polluted subantarctic coastal sediments and their shifts in response to oil exposure // Microb. Ecol. – 2012. – 64, N 3. – P. 605–616.
7. Jurelevicius D., Alvarez V.M., Peixoto R., Rosado A.S., Seldin L. The use of a combination of alkB primers to better characterize the distribution of alkane-degrading bacteria // PLoS One. – 2013. – 8, N 6. doi: 10.1371/journal.pone.0066565.
8. Lawniczak Ł., Marecik R., Chrzanowski Ł. Contributions of biosurfactants to natural or induced bioremediation // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2013. – 97, N 6. – P. 2327–2339.
9. Mulligan C.N. Recent advances in the environmental applications of biosurfactants // Curr. Opin. Colloid Interface Sci. – 2009. – 14, N 5. – P. 372–378.
10. Paisse S., Duran R., Coulon F., Goñi-Urriza M. Are alkane hydroxylase genes (alkB) relevant to assess petroleum bioremediation processes in hronically polluted coastal sediments? // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2011. – 92, N 4. – P. 835–844.
11. Semrau J.D., DiSpirito A.A., Yoon S. Methanotrophs and copper // FEMS Microbiol. Rev. – 2010. – 34, N 4. – P. 496–531.
12. Sriram M.I., Gayathiri S., Gnanaselvi U., Jenifer P.S., Mohan Raj S., Gurunathan S. Novel lipopeptide biosurfactant produced by hydrocarbon degrading and heavy metal tolerant bacterium *Escherichia fergusonii* KLU01 as a potential tool for bioremediation // Bioresour. Technol. – 2011. – 102, N 19. – P. 9291–9295.
13. Torres Pazmino D.E., Winkler M., Glieder A., Fraaije M.W. Monooxygenases as biocatalysts: classification, mechanistic aspects and biotechnological applications // J. Biotechnol. – 2010. – 146, N 1–2. – P. 9–24.
14. Tyagi M., da Fonseca M.M., Carvalho C.C. Bioaugmentation and biostimulation strategies to improve the effectiveness of bioremediation processes // Biodegradation. – 2011. – 22, N 2. – P. 231–241.
15. van Beilen J.B., Funhoff E.G. Alkane hydroxylases involved in microbial alkane degradation // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2007. – 74, N 1. – P. 13–21.
16. Wang L., Wang W., Lai Q., Shao Z. Gene diversity of CYP153A and AlkB alkane hydroxylases in oil-degrading bacteria isolated from the Atlantic Ocean // Environ Microbiol. – 2010. – 12, N 5. – P.1230–1242.
17. Wentzel A., Ellingsen T.E., Kotlar H.K., Zotchev S.B., Throne-Holst M. Bacterial metabolism of long-chain n-alkanes // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2007. – 76, N 6. – P. 1209–1221.

Отримано 28.04.2014